

**UNIVERSIDADE BRASIL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO ANIMAL
CAMPUS DESCALVADO**

VITOR FRANZIN SAGGIORATO

**ANÁLISE DO CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO DE
PROBIÓTICOS NO LEITE**

**ANALYSIS OF GROWTH AND DEVELOPMENT OF PROBIOTICS
IN MILK**

Descalvado – SP

2021

VITOR FRANZIN SAGGIORATO

**ANÁLISE DO CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO DE
PROBIÓTICOS NO LEITE**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Animal da Universidade Brasil, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Produção Animal.

Prof. Dr. Vando Edésio Soares
Orientador

Descalvado – SP
2021

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Bibliotecas da Universidade Brasil,
com os dados fornecidos pelo (a) autor (a).

S136a Saggiorato, Vitor Franzin
Análise do crescimento e desenvolvimento de probióticos no leite / Vi-
tor Franzin Saggiorato. – Descalvado: Universidade Brasil, 2021.
52 f. : il. ; 29,5cm.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Gradua-
ção em Produção Animal da Universidade Brasil, como parte dos requi-
sitos necessários para obtenção do título de Mestre em Produção Animal.
Orientador: Prof. Dr. Vando Edésio Soares

1. pH. 2. Temperatura. 3. Kefir. I.Título.

CDD 660.28449

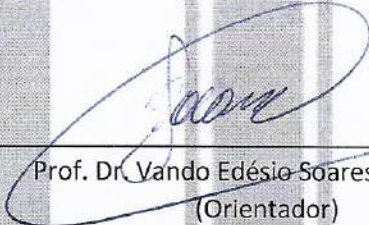


CERTIFICADO DE APROVAÇÃO


Vitor Franzin Saggiolato


“ANÁLISE DO CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO DE PROBIÓTICOS NO LEITE”

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Produção Animal da Universidade Brasil, pela seguinte banca examinadora:


Prof. Dr. Vando Edésio Soares
(Orientador)

Programa de Pós-Graduação em Produção Animal


Prof. Dr. Luiz Arthur Malta Pereira
Programa de Pós-Graduação em Produção Animal


Dra. Luriany Pompeo Ferraz
Laboratórios ORGOLABS

Descalvado, 30 de junho de 2021

Prof. Dr. Vando Edésio Soares

Presidente da Banca

Houve alteração do Título: sim () não



Termo de Autorização

Para Publicação de Dissertações e Teses no Formato Eletrônico na Página WWW do Respectivo Programa da Universidade Brasil e no Banco de Teses da CAPES

Na qualidade de titular(es) dos direitos de autor da publicação, e de acordo com a Portaria CAPES no. 13, de 15 de fevereiro de 2006, autorizo(amos) a Universidade Brasil a disponibilizar através do site <http://universidadebrasil.edu.br/portal/cursos/ppgpa/>, na página do respectivo Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu*, bem como no Banco de Dissertações e Teses da CAPES, através do site <http://bancodeteses.capes.gov.br>, a versão digital do texto integral da Dissertação/Tese abaixo citada, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira.

A utilização do conteúdo deste texto, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, fica condicionada à citação da fonte.

Título do Trabalho: **"ANÁLISE DO CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO DE
PROBIÓTICOS NO LEITE"**

Houve alteração do Título: sim () não (X)

Autor(es):

Discente: Vitor Franzin Saggiorato

Assinatura: Vitor Saggiorato

Orientador: Prof. Dr. Vando Edésio Soares

Assinatura: Vando Soares

Data: 30 de junho de 2021.

DEDICATÓRIA

Gostaria de dedicar o trabalho à família, os quais me apoiam em todas as questões (pessoais e profissionais). Aos colegas de trabalho que apoiaram a pesquisa e contribuíram para sua realização e desenvolvimento.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, aquele que nos dá força para sempre buscar o crescimento. Que nos encoraja para sempre encarar novos desafios.

Agradeço a empresa Orgolabs Laboratórios Ltda., a qual disponibilizou seu laboratório de microbiologia, equipamentos e materiais necessários. Também, a Dra. Luriany (responsável pelo laboratório), que contribuiu com seus conhecimentos e habilidades para o desenvolvimento da pesquisa.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Vando, o qual contribuiu muito para a pesquisa e auxiliou nos dados estatísticos.

Agradeço por fim ao Dr. Hélio Serra, uma pessoa que incentiva o estudo e a pesquisa, nos fazendo buscar e adquirir novos conhecimentos.

RESUMO

Probióticos são microrganismos vivos que conferem benefícios à saúde do hospedeiro, promovendo o balanço da microbiota intestinal. Quando administrado nas quantidades adequadas, reduz os efeitos da intolerância à lactose, imunomodulação, protege contra microrganismos patogênicos, tem atividade anticarcinogênica e regeneração hepática. Seu uso na nutrição animal vem sendo pesquisado e é cada vez mais aceito, principalmente após as restrições do uso de antimicrobianos. Foram avaliados os parâmetros de desenvolvimento de associação simbiótica de bactérias e leveduras, ASBL (kefir), para otimizar sua produção. Como substrato foi utilizado o leite integral tipo A e leite em pó com concentrações de 1, 2, 3, 4 e 5% de ASBL, com quatro repetições em câmara de germinação tipo BOD na temperatura de 30°C por 24 horas. Foram avaliados o pH e o ganho de peso do ASBL, rendimento de massa fermentada (kefiran) e de soro (kefiraride). Como conclusão, para uma produção em escala industrial, o mais indicado é fazer uso do leite em pó em uma concentração de 4% de ASBL, visto que a empresa em questão (financiadora da pesquisa) apresenta uma dificuldade nos processos de transporte e armazenamento do leite tipo A, o qual necessitaria de refrigeração.

Palavras-chave: pH. Temperatura. Kefir.

ABSTRACT

Probiotics are live microorganisms that provide health benefits to the host, promoting the balance of the intestinal microbiota. When administered in smaller amounts, it reduces the effects of lactose intolerance, immunomodulation, protects against pathogenic microorganisms, has anticarcinogenic activity and liver regeneration. Its use in animal nutrition has been researched and increasingly accepted, especially after restrictions on the use of antimicrobials. Development parameters for the symbiotic association of bacteria and yeasts, ASBL (kefir), were elaborated to optimize their production. Type A whole milk and powdered milk with 1, 2, 3, 4 and 5% ASBL were used as substrate, with four replications in a germination chamber type BOD at a temperature of 30°C for 24 hours. The pH and weight gain of ASBL, yeast dough yield (kefiran) and whey (kefiraride) were evaluated. In conclusion, for an industrial scale production, the most suitable is to use powdered milk in a concentration of 4% of ASBL, since the company in question (research funder) presents a difficulty in the transport and storage processes of the type A milk, which would need refrigeration.

Keywords: pH. Temperature. Kefir.

DIVULGAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE CONHECIMENTO

A pesquisa buscou encontrar a melhor condição para o desenvolvimento da ASBL em diferentes apresentações de leite, aferidas em 40 repetições submetidas a diferentes concentrações da ASBL estudada, condicionadas a uma temperatura de 30°C, o substrato que apresentou os melhores parâmetros produtivos foi o leite em pó, na concentração de 4% de ASBL para uma produção em escala industrial.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Grãos de kefir	23
Figura 2 - Fluxograma de produção do kefir de água e de leite	27
Figura 3 - Incidência de diarreia de leitões alimentados com dietas contendo diferentes níveis de probiótico, avaliados durante 21 dias pós-desmame.	35
Figura 4 - Peso vivo e ganho de peso diário de bezerros suplementados com e sem probiótico.....	36
Figura 5 - Esquema seguido no experimento.....	40
Figura 6 – Kefiran e Kefiraride.....	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Microrganismos encontrados no kefir descritos na literatura.	29
Tabela 2 - Composição nutricional do Kefir.....	30
Tabela 3 - Concentrações de ASBL e volume de leite	39
Tabela 4 - Resultados das comparações múltiplas dos potenciais hidrogeniônicos (pH) observados nas diferentes concentrações de Leite (tipo A e pó) nas fases inicial e final mantidos a 30° C. Universidade Brasil, Campus Descalvado, SP, Brasil, 2020.	41
Tabela 5 – Resultados das comparações múltiplas dos pesos das sementes de kefir observados nas diferentes concentrações de Leite (tipo A e pó) nas fases inicial e final mantidos a 30° C. Universidade Brasil, Campus Descalvado, SP, Brasil, 2020.	42
Tabela 6 - Resultados das comparações múltiplas da parte sólida (kefiran) e líquida (kefiranide) do kefir observados nas diferentes concentrações de Leite (tipo A e pó) obtidos a 30° C. Universidade Brasil, Campus Descalvado, SP, Brasil, 2020.....	43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ASBL	Associação simbiótica de bactérias e leveduras
pH	potencial Hidrogeniônico
APC	Antibióticos promotores de crescimento
TGI	Trato gastrointestinal
UFC	Unidade formadora de colônia
IgA	Imunoglobulina A
FOS	Frutooligossacarídeo
GOS	Galactooligossacarídeo
Cm	Centímetros
BAL	Bactéria ácido-lática
BAA	Bactéria ácido-acética
EUA	Estados Unidos da América
°C	Graus Celsius
p/v	Peso por volume
CO ₂	Dióxido de carbono
ml	Mililitro
H	Hora
µg	Micrograma
L	Litro
°D	Graus Dornic
Mg	Miligrama
Kg	Quilograma
Ppm	Parte por milhão
MAPA	Ministério da agricultura pecuária e abastecimento
BOD	Demanda biológica de oxigênio
G	Grama
[]	Concentração

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 OBJETIVOS	17
3 REVISÃO DE LITERATURA	18
3.1 PROBIÓTICO	18
3.1.1 Definição	18
3.1.2 Microrganismos probióticos	18
3.1.3 Mecanismo de ação	19
3.1.4 Benefícios	19
3.2 PREBIÓTICO	19
3.2.1 Definição	19
3.2.2 Mecanismo de ação	20
3.2.3 Benefícios	20
3.3 SIMBIÓTICO	20
3.4 KEFIR	21
3.4.1 Histórico	21
3.4.2 Definição	21
3.4.3 Grãos de kefir	22
3.4.4 Comercialização do kefir	24
3.4.5 Produção artesanal do kefir	25
3.5 CARACTERÍSTICAS DO KEFIR	27
3.5.1 Físico - Química	27
3.5.3 Microbiológicas	29
3.5.2 Nutricional	30
3.6 TERAPÊUTICAS	31
3.6.1 Estimulação do sistema imune	31
3.6.2 Espectro antibacteriano	32
3.6.3 Kefir e intolerância a lactose	32
3.6.4 Atuação no trato gastrointestinal	33
3.7 PROBIÓTICOS EM ANIMAIS PRODUÇÃO	33
3.7.1 Probióticos para animais de corte	34
3.7.2 Probióticos para animais leiteiros	35

3.7.3 Probióticos para aves	36
3.8 KEFIR NA ALIMENTAÇÃO DE ANIMAIS DOMÉSTICOS	37
4 MATERIAIS E MÉTODOS	38
4.1 LOCAL	38
4.2 ASBL.....	38
4.3 LEITE	38
4.4. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	39
4.6 AFERIÇÕES DOS PARÂMETROS.....	39
4.7. ANÁLISE DOS DADOS	41
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
6 CONCLUSÃO	44
REFERÊNCIAS	45

1 INTRODUÇÃO

O uso da biotecnologia na produção animal avançou mais rapidamente do que suas aplicações na produção vegetal. Em todo o mundo, mais da metade de todos os gastos com pesquisa e desenvolvimento em biotecnologia encontram-se no campo da saúde humana. No estágio experimental, um grande número de drogas, sondas diagnósticas, vacinas e assim por diante são frequentemente aplicados na produção animal antes de se tornarem disponíveis para uso por humanos (FREIRE, 2014).

Devido o aumento da conscientização do consumidor sobre os benefícios para a saúde associados a alimentos específicos, o desenvolvimento de alimentos funcionais ganhou atenção especial de cientistas e indústrias alimentícias. Alimentos funcionais têm a capacidade de manter uma boa saúde, além de fornecer nutrição essencial. Há uma crescente consciência do papel dos micróbios intestinais na saúde humana, em termos de desenvolvimento intestinal, imunidade inata ou digestão de alimentos e proteção do hospedeiro contra doenças (PERBELIN et al., 2019).

Atualmente, a definição mais aceita é a de que probióticos são microrganismos vivos que conferem benefícios à saúde do hospedeiro, promovendo o balanço da microbiota intestinal quando administrado nas quantidades adequadas, redução dos efeitos da intolerância a lactose, imunomodulação, proteção contra microrganismos patogênicos, atividade anticarcinogênica e regeneração hepática (SAAD, 2006 e DINIZ, 2003).

A ASBL (associação simbiótica de bactérias e leveduras), exemplo de probiótico, é uma mistura complexa de lactobacilos, lactococos, leuconostoc, estreptococos, leveduras e bactérias de ácido acético. Expressam uma atividade metabólica simbiótica, contendo ainda vitaminas (A, B1, B2, B5, C e K), minerais e aminoácidos, variando conforme o tipo de substrato em que ocorre a sua fermentação (ARSLAN, 2015).

Neste sentido, sabido dos benefícios, os probióticos são utilizados na nutrição de animais há mais de 50 anos. Contudo, os estudos envolvendo esses microrganismos se tornaram mais recorrentes após os regulamentos que proibiram o uso de antimicrobianos como ação de aditivos promotores de crescimento, o que provocaria sérios danos econômicos (RAPOSO et. al, 2019).

2 OBJETIVOS

O trabalho objetivou aferir o pH e os parâmetros produtivos (rendimento de massa) em diferentes concentrações de ASBL sob duas formas de apresentação de leite em temperatura constante, visando estabelecer as melhores condições para a empresa atingir uma produção em escala industrial.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 PROBIÓTICO

3.1.1 Definição

O termo "probióticos" foi usado pela primeira vez por Lilly e Stillwell (1965) para designar substâncias promotoras de crescimento desconhecido produzido por um protozoário ciliado que estimulava o crescimento de outro ciliado. O termo agora cobre um grupo muito mais amplo de organismos (FAO, 2016).

Parker (1974) definiu os probióticos como “organismos e substâncias que contribuem para o equilíbrio microbiano intestinal”, incluindo, assim, organismos vivos e substâncias não vivas. Fuller (1989) criticou a inclusão da palavra "substâncias" e redefiniu os probióticos como "um suplemento alimentar microbiano vivo que afeta benéficamente o animal hospedeiro, melhorando seu equilíbrio microbiano intestinal.”.

3.1.2 Microrganismos probióticos

O leite fermentado normalmente tem sido mais utilizado pela indústria para a introdução da microbiota probiótica em humanos, entretanto, no mercado atual outros exemplos de produtos que abrangem microrganismos probióticos são encontrados: queijos, sorvetes, leite em pó infantil, leite “sweet’ acidófilo (COSTA et al., 2013).

As espécies *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são mais utilizadas como probióticos, porém encontram-se outras opções, como o *Bacillus*, *Pediococcus*, *Lactococcus* e o fermento *Saccharomyces*. Durante milhares de anos as bactérias ácido-lácticas, como a espécie *Lactobacillus*, foram utilizadas para a conservação de alimentos por fermentação, podendo desempenhar uma função dupla, podendo agir como agentes fermentadores dos alimentos e gerar efeitos benéficos à saúde (WORLD GASTROENTEROLOGY ORGANISATION, 2011).

Apesar do número específico de microrganismos não terem sido apontados na definição de probióticos proposta pela *World Health Organization* (2006), a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2012), aconselha que o produto

tenha quantidade mínima viável de bactérias nos alimentos probióticos, onde deverá ter entre a faixa de 10^8 a 10^9 unidades formadoras de colônia (UFC) na recomendação diária do produto pronto para o consumo. Desde que seja comprovada a sua eficácia, valores menores podem ser aceitos.

3.1.3 Mecanismo de ação

Os principais mecanismos de ação dos probióticos incluem o aumento da barreira epitelial, aumento da adesão à mucosa intestinal e inibição concomitante da adesão do patógeno, exclusão competitiva de microorganismos patogênicos, produção de substâncias anti-microorganismo e modulação do sistema imunológico (SAAD, 2006; BERMUDEZ-BRITO et al., 2012; LIMA, 2017).

3.1.4 Benefícios

Os probióticos ativam os macrófagos locais para aumentar a apresentação de antígenos aos linfócitos B e aumentar a produção de imunoglobulina A (IgA) secretora tanto local quanto sistemicamente. Ademais, modulam perfis de citocinas e induzem hiporresponsividade a antígenos alimentares.

Além de benefícios não imunológicos, tais como: alterar o pH local para criar um ambiente desfavorável aos patógenos, aumenta a função da barreira intestinal, estimula a produção epitelial de mucina e modifica as toxinas de ordem patogênica (WGO, 2011).

3.2 PREBIÓTICO

3.2.1 Definição

Os prebióticos são ingredientes alimentares que não são digeridos e são metabolizados por bactérias como bifidobactérias e lactobacilos, exercendo efeito benéfico à saúde do hospedeiro. Os mais utilizados comercialmente são: inulina, frutooligossacarídeos (FOS), galactooligossacarídeos (GOS) e lactulose, que podem

ser produzidos enzimaticamente ou encontrados naturalmente em alguns alimentos (aspargo, chicória, tomate, mel, cebola, leite humano) (TEBERGA, 2017).

3.2.2 Mecanismo de ação

Conduzem ao antagonismo de patógenos potenciais, melhorando o ambiente intestinal, fortalecendo a barreira intestinal, à regulação negativa da inflamação e à regulação positiva da resposta imune a desafios antigênicos (WGO, 2011).

3.2.3 Benefícios

A associação econcomitante de prebióticos e probióticos e seu efeito simbiótico, demonstram uma importante vantagem competitiva, pois favorece uma adaptação do probiótico ao substrato prebiótico. Alternativamente esse efeito simbiótico pode ser direcionado às diferentes regiões “alvo” do trato gastrointestinal, os intestinos delgado e grosso (ROSELINO, 2012). O consumo de probióticos e de prebióticos selecionados apropriadamente pode aumentar os efeitos benéficos de cada um deles, uma vez que o estímulo de cepas probióticas conhecidas leva à escolha dos pares simbióticos substrato-microrganismo ideais (MAZUREK e FREDERIGO, 2012).

3.3 SIMBIÓTICO

Os simbióticos representam ingredientes e/ou alimentos que contêm probióticos e prebióticos. Portanto, os simbióticos proporcionam ação conjunta de prebióticos e probióticos podendo ser classificados como suplementos dietéticos funcionais que podem atuar juntos sobre a microbiota intestinal beneficiando a saúde do indivíduo. (WGO, 2011).

Existem dois tipos de abordagem simbiótica (KOLIDA e GIBSON, 2011 apud TEBERGA, 2017):

Complementar: através do qual o probiótico é escolhido com base nos efeitos benéficos desejados específicos no hospedeiro, e o prebiótico é selecionado de forma independente para aumentar seletivamente as concentrações de microrganismos benéficos presentes na microbiota intestinal. O prebiótico pode promover o crescimento e atividade do probiótico, mas apenas indiretamente.

Sinérgica: quando o prebiótico é escolhido especificamente para estimular o crescimento e atividade da cepa probiótica selecionada. Neste caso, o prebiótico é selecionado para ter uma afinidade mais elevada para o probiótico escolhido e para melhorar a sua sobrevivência e crescimento dentro do organismo hospedeiro.

3.4 KEFIR

3.4.1 Histórico

O kefir é uma bebida láctea fermentada naturalmente carbonatada, refrescante, com um sabor ligeiramente ácido e textura cremosa. A palavra kefir se origina da Turquia e significa boa saúde ou bem-estar. É um dos produtos lácteos fermentados mais antigos do mundo. A hipótese da origem dos grãos de kefir de leite situados há milhões de anos e permitindo que colônias de bactérias e leveduras (grãos de kefir "selvagens") participem das defesas imunológicas de seus hospedeiros mamíferos por estarem presentes no próprio início de seu sistema digestivo. Para transformar o leite em kefir, são necessários grãos de kefir, que contém microorganismos. O kefir é também conhecido como Kefyr, Kephir, Kefer, Kiaphur, Knapon, Kepi ou Kippi (WGO, 2011)

3.4.2 Definição

Os grãos de kefir consistem em uma mistura de bactérias de ácido láctico, leveduras e bactérias de ácido acético. Os benefícios nutricionais do kefir estão

relacionados a nutrientes como carboidratos, proteínas, minerais e vitaminas. Os efeitos à saúde causados pelo kefir e seus produtos podem ser atribuídos a vários componentes, como as bactérias e leveduras já citadas, exopolissacarídeos, ácidos orgânicos, antioxidantes e peptídeos bioativos (ALMEIDA, 2018)

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, através do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados define kefir como:

Leite fermentado, adicionado ou não de outras substâncias alimentícias, obtidas por coagulação e diminuição do pH do leite, ou reconstituído, adicionado ou não de outros produtos lácteos, cuja fermentação se realiza com cultivos de ácido-lácticos elaborados com grãos de Kefir, *Lactobacillus kefir*, espécies dos gêneros *Leuconostoc*, *Lactococcus* e *Acetobacter* com produção de ácido láctico, etanol e dióxido de carbono. Os grãos de Kefir são constituídos por leveduras fermentadoras de lactose (*Kluyveromyces marxianus*) e leveduras não fermentadoras de lactose (*Saccharomyces omnisporus* e *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces exiguus*), *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium sp* e *Streptococcus salivarius* subsp *thermophilus*. Estabelece, ainda, que os microorganismos específicos devem ser viáveis, ativos e abundantes no produto final durante seu prazo de validade com a contagem mínima de 107 (ufc/g) de bactérias lácticas totais e de 104 (ufc/g) de leveduras específicas e de 0,5 a 1,5 de Etanol (% v/m). (BRASIL, 2007, p.2).

Os benefícios à saúde relatados com a utilização do kefir incluem atividade anticarcinogênica, antimutagênica, anti-inflamatória, antimicrobiana, anti-hipertensiva e antidiabética, efeitos da modulação imunológica, maior utilização da lactose e efeitos hipocolesterolêmicos (MANARINI, 2018)

3.4.3 Grãos de kefir

Os grãos de kefir (Figura 1) são uma massa gelatinosa, branca ou levemente amarela, com uma textura fina, mas firme. Esses grãos apresentam uma estrutura similar à pipoca ou couve-flor e um diâmetro que varia de 0,3 a 3,5 cm. Ademais, sua formulação contém bactérias ácido-lácticas (*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*), bactérias ácido-acéticas (*Acetobacter*) e leveduras misturadas com caseína e açúcares complexos presos numa matriz de polissacarídeos. (PIETTA e PALEZI, 2015; CARAZZATO, 2019).

Figura 1 - Grãos de kefir



Fonte: CARAZZATO, 2019.

Os grãos de kefir contêm aproximadamente 83% de água, $4 \pm 5\%$ de proteínas e $9 \pm 10\%$ de um polissacarídeo chamado kefiran. Bactérias do ácido láctico (BAL) são a maior população nos grãos de kefir acompanhadas por bactérias do ácido acético (BAA) e leveduras (LEITE et al., 2013). A microbiota complexa é um exemplo de comunidade simbiótica onde BAL ($10^8 - 10^9$ ufc/g de grão), leveduras ($10^7 - 10^8$ ufc/g de grão) e BAA ($10^5 - 10^6$ ufc/g de grãos) compartilham seus bioprodutos como fontes de energia e fatores de crescimento microbiano (BENGOA et al., 2018).

Para obter o kefir, os grãos são inoculados no leite em uma determinada proporção e quando as bactérias e leveduras do grão de kefir encontram as condições adequadas (nutrientes, temperatura), o processo de fermentação começa resultando em um aumento no número de microrganismos e a produção de diferentes metabólitos. Ao final desse processo, os grãos de kefir que aumentaram de massa podem ser recuperados do leite fermentado (separados por filtração) e utilizados imediatamente em uma nova fermentação (subcultura) ou armazenados em condições adequadas para serem utilizados como starters (BENGOA et al., 2018).

3.4.4 Comercialização do kefir

No Brasil, a produção do leite fermentado com grãos de kefir ainda é predominantemente caseira, utilizando os grãos de kefir obtidos por doações, porém em vários países como Rússia, EUA, Canadá e França a produção em escala industrial é realizada com culturas starters liofilizada, obtendo assim, leites fermentados mais padronizados (D'ANGELLIS e UBALDO, 2020).

Embora os investimentos na produção de kefir industrial estejam mais avançados internacionalmente, empresas brasileiras têm buscado inovações no mercado de novos produtos de kefir. Uma empresa com sede no estado de São Paulo desenvolveu um leite fermentado de kefir nos sabores limão, banana, frutas vermelhas e o natural. O foco da empresa foi exclusivamente na produção de kefir, atendendo a demanda de consumidores que buscam por alimentos funcionais, sem lactose e saborosos. Em 2019, outra empresa no Sul do Brasil, lançou no mercado uma nova bebida probiótica kefir nos sabores natural e na exótica baunilha cítrica, ambos adoçados com açúcar demerara. Após o recém-lançamento do produto, a empresa já tinha alcançado 30% da previsão inicial das vendas (PAULA et al. 2019; D'ANGELLIS e UBALDO, 2020).

O kefir faz parte da dieta humana em muitas partes do mundo como Sudoeste da Ásia, Leste e Norte da Europa, América do Norte, Japão, Oriente Médio, Norte da África e Rússia devido a seus significativos valores terapêuticos e nutricionais. É recomendado para lactantes acima de seis meses e o bifidokefir, que contém células ativas de *B. bifidum*, provou ser mais eficaz do que o kefir tradicional na eliminação de infecção intestinal em crianças (SARKAR, 2007; PAULA et al. 2019).

O kefir tibetano, usado na China, é composto de *Lactobacillus*, *Lactococcus* e levedura. Além disso, bactérias de ácido acético foram identificadas no kefir tibetano, dependendo da região na China de onde foi obtido, além disso, sua composição difere do kefir russo, irlandês, kefir de Taiwan, entretanto, sabe-se que essa diversidade microbiana é responsável pelas características físico-químicas e atividades biológicas de cada kefir (PRADO et al., 2015).

3.4.5 Produção artesanal do kefir

Os grãos de kefir têm condições de passar por fermentação em variados alimentos, como leite de vaca, cabra, ovelha, búfala, extrato de soja, açúcar mascavo, sucos de frutas, entre outros. A produção da bebida ocorre diretamente pelo acréscimo dos grãos no substrato escolhido. Proliferam-se na medida em que são cultivados, resultando no aumento do tamanho, sendo fragmentado em novos grãos que irão manter o equilíbrio microbiológico presentes no grão original. Seu desenvolvimento depende de quanto o frasco de fermentação é agitado durante o processo (SANTOS, 2012).

A produção artesanal tradicional envolve a inoculação direta do leite com uma quantidade variável de grânulos. O leite cru é fervido, depois resfriado a cerca de 20-25°C e inoculado com grânulos de kefir de 2-10%. Depois disso, um período de fermentação começa entre 18-24 horas a 20-25°C. Ao final do processo de fermentação, os grânulos são peneirados e filtrados, pode ser reaproveitado para nova fermentação ou armazenado em leite fresco (de 1 a 7 dias), enquanto a bebida de kefir deve ser armazenada a 4°C, pronta para seu consumo (PALLARÉS, 2016).

Embora exista uma relação ideal entre os grãos e o substrato da fermentação (1:30 a 1:50 (p/v) no caso do leite animal), na prática, as medidas são feitas empiricamente (ROSA et al., 2017).

Na fermentação, todos os microrganismos existentes nos grãos de kefir estarão ativos em fases distintas. Uma elevada acidez fornece boas condições para crescimento e desenvolvimento de lactobacilos. Na fase de refrigeração, ocorre maturação de leveduras, bactérias do ácido acético e as produtoras de aroma, que possuem um crescimento mais lento, limitando a sua vida de prateleira (CABRAL, 2014).

Quando o leite é usado como substrato, o kefir é semelhante ao iogurte. Quanto maior o teor de gordura do leite, mais espesso e cremoso será o kefir. Os grãos de kefir podem aumentar de tamanho em até 2% do original para formar uma nova biomassa, o que permite a produção contínua, uma vez que os grãos podem ser posteriormente adicionados a um substrato de fermentação.

Podem ser usados starter puro e cultura liofilizada, eliminando a etapa de recuperação do kefir grãos. O kefir pode ser consumido imediatamente após a separação dos grãos ou pode ser refrigerado para consumo posterior. Durante a

etapa de resfriamento, a fermentação alcoólica leva ao acúmulo de CO₂, etanol e complexo de vitaminas B. Essa etapa de maturação reduz o teor de lactose, tornando o produto desejável para consumo por indivíduos com intolerância à lactose e diabetes.

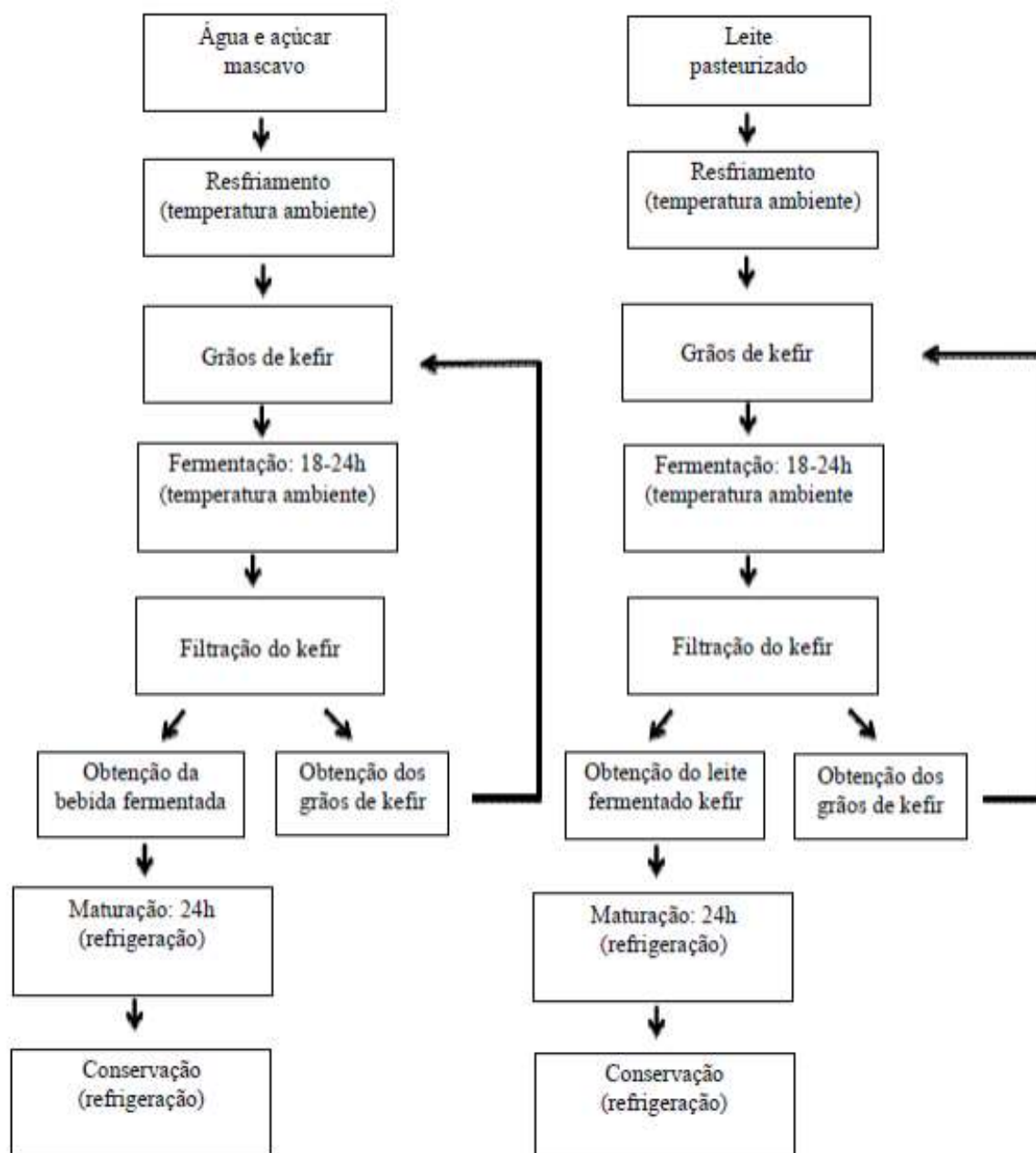
Beshkova et al. (2002) investigaram diferentes métodos de produção de kefir. No método tradicional, leite com 3% de gordura foi homogeneizado a 12,5-17,5 MPa, pasteurizado 92°C durante 15 minutos e em seguida resfriado a 22°C para adição do inóculo (3% de grãos de kefir). Em seguida, a mistura foi incubada a 22°C por 22 horas ou até atingir pH 4,7. Durante este período foram realizadas 3 a 5 agitações manuais. Após a formação do coágulo, resfriou-se lentamente o produto final da fermentação até 10°C.

Os grãos de kefir foram recuperados e lavados com água destilada esterilizada, com auxílio de uma peneira. Ao final do processo, 400 ml da bebida fermentada foram distribuídos em garrafas de vidro e acondicionados a 4°C. O grande diferencial em relação aos demais leites fermentados é que no kefir os grãos inoculados são recuperados ao final do processo de fermentação

Kefir de água, popularmente conhecido como “típicos” em algumas regiões do mundo, é uma bebida fermentada tradicional produzida a partir de uma cultura iniciadora adaptada para uma solução de sacarose, que por vezes é adicionada de diferentes frutas secas (tradicionalmente, o figo) ou frutas frescas no processo de fermentação da bebida. A fermentação possui duração média de 24 a 48 horas, em temperatura em torno de 30^o±40^oC e, como consequência, obtém-se uma bebida com característica turva e carbonatada. Dependendo do tipo de açúcar utilizado na fermentação, a cor final da bebida varia entre o caramelo e amarelo claro. O açúcar é consumido durante a fermentação pelas leveduras, tornando o produto pobre em açúcar, com sabor e aroma ácido, refrescante e levemente alcoólico (GULITZ et al., 2011).

A Figura 2 pode ser observado o fluxograma de produção do kefir de água e de leite, apresentado por Almeida (2018).

Figura 2 - Fluxograma de produção do kefir de água e de leite



Fonte: Almeida (2018)

3.5 CARACTERÍSTICAS DO KEFIR

3.5.1 Físico - Química

De acordo com estudos (GARCIA et al., 1984; SARKAR, 2008) a composição físico-química do kefir pode variar conforme a idade dos grãos, as matérias-primas utilizadas, a microbiota e a tecnologia utilizada no processamento. As principais características do kefir tradicional são de 89-90% de umidade, 0,2% de lipídios,

3,0% de proteína, 6,0% de açúcar, 0,7% de cinzas. Quando fresco, apresenta as seguintes características: pH de 4,50; cerca de 8,18 g/L⁻¹ de ácido láctico; álcool de 0,25% (m/m) e CO₂ de 1,05 g/L⁻¹.

Além disso, o kefir contém diversos compostos com propriedades aromáticas tais como: acetaldeído, diacetil, acetona, acetato de etilo, butanona, ácidos pirúvico, acético, propiônico e butírico. Os compostos aromáticos no kefir tradicional fresco contém: acetaldeído de 9,10 µg⁻¹; acetona de 0,60µg⁻¹; acetato de etilo de 0,02 µg⁻¹; butanona de 0,06 µg⁻¹; diacetil de 1,08 µg⁻¹; etanol de 2998,0 µg⁻¹. (GARCIA et al., 1984)

O kefir acondicionado a 4°C por 21 dias apresentou redução nas concentrações de etanol de 0,08%, acetaldeído de 11 µg/g e um declínio em acetoína de 16 µg/g. Entretanto, diacetil não foi detectado durante a fermentação ou acondicionamento (GARCIA et al., 1984; SARKAR, 2008; BESHKOVA et al., 2002; CABRAL, 2014).

Weschenfelder et al. (2011) ao analisarem as características físico-químicas e sensorial de kefir tradicional e derivados provenientes da fermentação de grãos de kefir com diferentes concentrações de leite, verificaram que houve diferença significativa nos valores de pH. A fermentação do kefir no leite se deu em 24 horas a 25°C e a maturação em 6 dias a 7 °C.

A média dos valores de pH encontrados variaram de 3,60 à 3,79. Em relação à acidez (°D), os autores verificaram que houve diferença entre as amostras analisadas. A média dos valores encontrados variou entre 141,95 a 266,98. De acordo com os autores os valores de acidez encontrados ficaram acima do que é estabelecido pela legislação (WESCHENFELDER et al. (2011)

Leite et al. (2013) ao analisarem as características físico-químicas do kefir fermentado em leite após as 24 horas de fermentação até 28 dias de armazenamento, verificaram que os valores do pH declinaram progressivamente enquanto os valores de acidez aumentaram durante a estocagem. Como consequência da produção de ácidos, o pH que inicialmente era de 6,55, ao final do período de análise chegou a 4,31. Nas primeiras 24 horas após a fermentação, a produção de ácido láctico foi de 7,38 mg/L, enquanto que no final do período de estocagem, 28 dias, a produção de ácido láctico foi de 9,54 mg/L.

3.5.3 Microbiológicas

Os grãos de kefir possuem composição microbiológica pouco controversa. Vários relatos mostram que a microbiota dos grãos de kefir dependem muito da origem dos grãos, dos processos de produção, estocagem e condições de cultivo (GARROTE *et. al.*, 2001).

Carvalho (2011) e Almeida (2018) apresentam na tabela 1 os microrganismos encontrados no kefir citados na literatura, citados no estudo de Silva (2019).

Tabela 1 - Microrganismos encontrados no kefir descritos na literatura.

Referências	Micro-organismos isolados e identificados
	Bactérias ácido-láticas:
	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>delbrueckii</i>
	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>
	<i>Lactobacillus kefir</i>
	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>
	<i>Lactobacillus brevis</i>
	<i>Lactobacillus viridescens</i>
	<i>Lactobacillus gasser</i>
	<i>Lactobacillus fermentum</i>
	<i>Lactobacillus casei</i>
	<i>Lactobacillus helveticus</i>
	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>
	<i>Lactobacillus kefiranofaciens</i>
	<i>Lactobacillus kefirgranum</i>
	<i>Lactobacillus parakefir</i>
	<i>Streptococcus thermophilus</i>
	<i>Enterococcus faecalis</i>
	<i>Lactobacillus plantarum</i>
	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
	Leveduras:
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
	<i>Saccharomyces delbrueckii</i>
	<i>Saccharomyces unisporus</i>
	<i>Torulopsis holmii</i>
	<i>Candida holmii</i>
	<i>Torulaspora delbrueckii</i>
	<i>Candida holmii</i>
	<i>Torulaspora delbrueckii</i>
	<i>Torulaspora delbrus</i>
	<i>Candida friedricchii</i>
	<i>Candida kefir</i>
	<i>Kluyveromyces lactis</i>
	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
	<i>Pichia fermentum</i>
	<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>
	<i>Debaryomyces hansenii</i>
	<i>Kazachstania unispora</i>
	<i>Kazachstania exigua</i>
	Bactéria ácido-acética:
	<i>Acetobacter aceti</i>
GARROTE <i>et. al.</i> (2001), WITTHUNN <i>et. al.</i> (2005), SARKAR (2007), CHEN <i>et. al.</i> (2008), JIANZHONG <i>et. al.</i> (2009).	
MARSHALL <i>et. al.</i> (1984) GARROTE <i>et. al.</i> (2001), SARKAR (2007), JIANZHONG <i>et. al.</i> (2009).	
GARROTE <i>et. al.</i> (2001)	

Fonte: Carvalho (2011) e Almeida (2018) apud Silva (2019)

3.5.2 Nutricional

O kefir apresenta grande quantidade de vitaminas B1, B12, cálcio, aminoácidos essenciais, ácido fólico e vitamina K, apresentando também níveis consideráveis de biotina, no caso, a vitamina B que auxilia na assimilação de outras vitaminas do complexo B, tais como ácido fólico, ácido pantotênico e vitamina B12. As vantagens das vitaminas do complexo B são muitas, dentre elas: regulação dos rins, fígado e sistema nervoso e tecidual, aumento de energia e promoção da longevidade. Portanto, o kefir contém vitaminas, minerais e proteínas de fácil absorção que são essenciais na manutenção das funções do corpo (ALMEIDA, 2018).

A tabela 2 apresenta a composição nutricional do kefir (RIBEIRO, 2015 apud SILVA, 2019).

Tabela 2 - Composição nutricional do Kefir

Atributos nutriionais	Componentes nutricionais	Concentração 100 g
Vitaminas (mg)	Vitamina B1	<1,00
	Vitamina B2	<0,50
	Vitamina B5	0,30
Aminoácidos (g)	Treonina	0,18
	Lisina	0,38
	Valina	0,22
	Isoleucina	0,26
	Metionina	0,14
	Fenilalanina	0,23
	Triptofano	0,07
Minerais		
Macro elementos (g)	Potássio	1,65
	Cálcio	0,86
	Magnésio	1,45
	Fósforo	0,30
Micro elementos (mg)	Cobre	0,73
	Zinco	9,27
	Ferro	2,03
	Manganês	1,30
	Cobalto	0,02
	Molibdênio	0,03

Fonte: Ribeiro (2015) apud Silva (2019)

3.6 TERAPÊUTICAS

O consumo do kefir sempre foi associado a benefícios à saúde, incluindo propriedades fisiológicas, profiláticas e terapêuticas. Pesquisas mostraram a utilização do kefir para reduzir os sintomas de intolerância à lactose, estimular o sistema imunológico e diminuir o colesterol. Além disso são atribuídos ao kefir propriedades antimutagênicas e anticarcinogênicas. Por se tratar de um alimento lácteo funcional, o kefir tornou-se foco de estudos. Alguns dos efeitos benéficos para a saúde podem estar associados às mudanças bioquímicas que ocorrem no leite, como a produção de ácidos orgânicos e peptídeos bioativos produzidos durante o processo de fermentação e da diversidade da microbiota que atuam de forma independente ou em cooperação (ALTAY et al., 2013; MORE, 2019).

3.6.1 Estimulação do sistema imune

De acordo com Vinderola et al. (2005) a imunidade inata que protege contra patógenos nos tecidos e na circulação é a primeira linha de defesa na reação imune, onde os macrófagos têm um papel crítico no direcionamento do destino da infecção. Recentemente, foi demonstrado que o kefir modula a resposta imune em camundongos, aumentando o número de células IgA + na mucosa intestinal e brônquica e a atividade fagocítica de macrófagos peritoneais e pulmonares. Os pesquisadores concluíram que diferentes componentes do kefir possuem um papel in vivo como substâncias bioterapêuticas orais capazes de estimular as células imunes do sistema imune inato.

Pesquisa de Carisi et al (2015) informa que no kefir, bactérias e leveduras existem em associação simbiótica e contribuem para propriedades benéficas. Os pesquisadores demonstraram a capacidade do kefir de modular a resposta imune da mucosa em camundongos. Alguns efeitos imunológicos foram atribuídos à formação de peptídeos bioativos durante a fermentação do leite e também à produção de exopolissacarídeos como o kefiran. Comprovaram também que a administração de *L. kefiri* CIDCA 8348 a camundongos não apenas diminui a expressão de

mediadores pró-inflamatórios, mas também aumenta as moléculas anti-inflamatórias nos sítios indutores e efetores do sistema imunológico do intestino.

3.6.2 Espectro antibacteriano

Estudos relatam que as bactérias ácido lácticas dos grãos de kefir produzem bacteriocinas e o próprio kefiran, que são substâncias com propriedades antimicrobianas (RODRIGUES et al., 2005; WESCHENFELDER et al. 2009).

Pesquisas afirmam que a atividade antibacteriana do kefir contra diversos patógenos atribui-se à produção de metabólitos como os ácidos orgânicos (ácidos láctico e acético), peróxido de hidrogênio, dióxido de carbono, etanol, diacetil e peptídeos (bacteriocinas) produzidos pelas BAL, BAA e leveduras durante a fermentação (FARNWORTH, 2005; SARKAR, 2007; ALMEIDA, 2018).

Garrote et al. (2000) afirmam que as concentrações de ácido láctico ou ácido láctico mais ácido acético encontrados no kefir apresentaram atividade inibitória contra *Escherichia coli*, concordando com o estudo de Czamanski et al. (2004) informando que o kefir tem um maior efeito bacteriostático contra bactérias Gram-negativo, mas melhor efeito bactericida contra Gram-positivo.

3.6.3 Kefir e intolerância a lactose

A intolerância à lactose pode ser devida de fatores genéticos. Em indivíduos com não persistência de lactase, a lactose dietética não é ou é incompletamente dividida pela lactase intestinal, e a lactose residual é fermentada pela microbiota, resultando em sintomas abdominais como diarreia, desconforto abdominal e flatulência.

Um único limiar de lactose para todos os indivíduos com intolerância à lactose não pode ser determinado devido à grande variação nas tolerâncias individuais. Sintomas de intolerância a lactose foram descritos após ingestão de menos de 6 g de lactose em alguns indivíduos, e o único tratamento satisfatório da intolerância à lactose é uma dieta com conteúdo reduzido de lactose (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY-EFSA, 2010, MARTINS et al., 2012).

A adição do kefir na dieta de paciente intolerantes auxiliou na redução de sintomas, uma vez que os microrganismos presentes no kefir vão metabolizar a lactose, tornando-a tolerável para o organismo que não consegue metabolizá-la (MARTINS, 2012).

3.6.4 Atuação no trato gastrintestinal

Estudos envolvendo probióticos em atletas demonstraram manutenção da função gastrointestinal e da saúde, atenuação dos efeitos imunossupressores, suscetibilidade reduzida a doenças, resistência aumentada a infecções do trato respiratório superior e permeabilidade intestinal reduzida (GLEESON et al., 2011; LAMPRECHT et al., 2012).

Pesquisa de O'Brien et al. (2015) informa que os efeitos do kefir na saúde intestinal e no bem-estar geral dos atletas na redução e prevenção do aumento acentuado nos níveis de marcadores inflamatórios.

3.7 PROBIÓTICOS EM ANIMAIS PRODUÇÃO

De acordo com Monferdini e Duarte (2010), os probióticos têm sido utilizados como uma alternativa ao uso de antibióticos na dieta de suínos. A ingestão dos probióticos é feita na forma de preparações farmacêuticas como cápsula ou sachê, ou de alimentos fermentados como iogurte ou leite "acidophilus" ou também suplementados com leite em pó adicionado de células vivas. Para aves os probióticos são atualmente utilizados com a finalidade de: auxiliar no ganho de peso, reduzir ou eliminar o uso de antibióticos na alimentação, estimular a atividade imunológica, entre outros.

Nas palavras de Menegon (2020), O uso de probióticos está de acordo com tendências naturalistas do mercado. A perspectiva é de um aumento considerável na sua utilização entre bovinocultores nos próximos 10 anos, visto instruções normativas internacionais que pregam a redução do consumo de antibióticos na criação animal. Cabe ao produtor rural brasileiro estar atento às novas tecnologias e

tendências do mercado e partir na frente na utilização das inovações nos seus sistemas de criação.

3.7.1 Probióticos para animais de corte

Ultimamente, as organizações de pesquisa e as indústrias de nutrição têm trabalhado nos efeitos da suplementação alimentar para melhorar o crescimento dos animais. Entre os suplementos mais estudados estão os probióticos, prebióticos e simbióticos que foram testados em vários animais não ruminantes (BRITO et al., 2013).

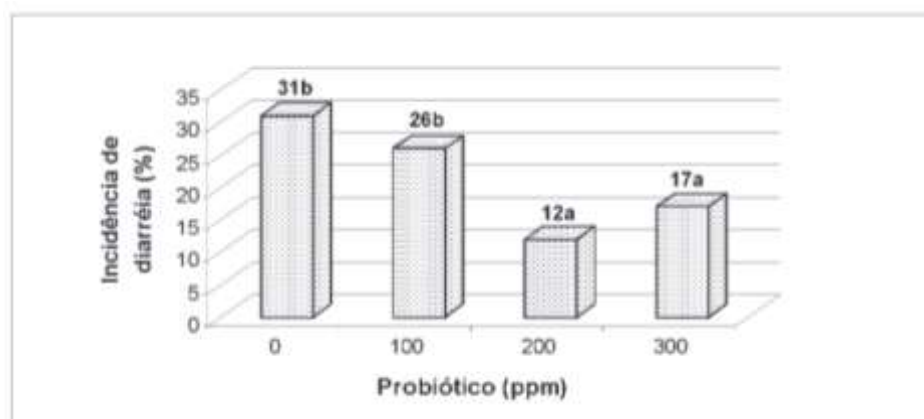
A identificação de probióticos adequados pode ser o próximo passo para diminuir o risco de doenças intestinais e reduzir distúrbios microbianos específicos, bem como demonstrar seu papel no desempenho da produção de animais, segurança e salubridade da carne de animais evidenciando a proteção do consumidor. Os mecanismos de ação dos probióticos incluem a inibição do crescimento do patógeno por competição por fontes nutricionais e sítios de adesão, secreção de substâncias antimicrobianas e inativação de toxinas. Conseqüentemente, o principal interesse na aplicação de probióticos tem sido a prevenção e o tratamento de infecções gastrointestinais e doenças diarreicas em animais associadas a antibióticos (AHASAN et al., 2015).

Rasteiro et al. (2007) através de estudos com bovinos machos criados em sistema de pastejo extensivo no período da seca, verificaram que os animais que receberam mistura mineral proteinada com probiótico, tiveram aumento significativo ($P < 0,01$) no ganho de peso de 13.35 kg (19.45%) em relação ao grupo de animais que receberam apenas mistura mineral proteinada.

Na suinocultura, o experimento de Junqueira et. al (2009) faz uma comparação entre sete dietas em animais nas fases de creche, crescimento e terminação. Os melhores resultados foram presentes na dieta chamada de “simbiótica” (prebiótico + probiótico), na qual os animais foram 8,23% mais eficientes na transformação do alimento em ganho de peso. A utilização de aditivos como promotores de crescimento não compromete as características de carcaça e a morfometria intestinal dos animais, mostrando ser uma alternativa viável ao uso de antibióticos na ração.

Huaynate et. al (2006), demonstra a partir de uma comparação entre quatro dietas, que o tratamento de leitões suplementados com probióticos em uma quantidade de 200 ppm, a incidência de diarreia foi de 12% enquanto no grupo controle (0 ppm) obteve-se uma ocorrência de 31% como mostra o gráfico a seguir.

Figura 3 - Incidência de diarreia de leitões alimentados com dietas contendo diferentes níveis de probiótico, avaliados durante 21 dias pós-desmame.



Fonte: Huaynate et. al (2006)

3.7.2 Probióticos para animais leiteiros

Abe et al. (1995) estudaram o desempenho de bezerros suplementados com probióticos administrados via sucedâneo do leite (*Bifidobacterium pseudolongum*, *B. thermophilus*, *Enterococcus faecium* e *Lactobacillus acidophilus*). A utilização de probióticos melhorou o ganho de peso corporal total, 31,4kg e 25,4kg, e a conversão alimentar, 2,08kg e 2,37kg, observados nos grupos experimental e controle, respectivamente.

Em uma pesquisa semelhante, Neto et. al (2014) avaliaram bezerros holandeses suplementados com probiótico no aleitamento (1-6 semanas) e pós-aleitamento (7-12 semanas). O consumo de concentrado e feno não variou conforme o tratamento, porém comprovou-se que o uso do aditivo resulta em uma melhor conversão alimentar, conseqüentemente em um maior ganho de peso, como demonstra a figura 4.

Figura 4 - Peso vivo e ganho de peso diário de bezerros suplementados com e sem probiótico.

	Tratamentos	
	Controle	Probiótico
Peso vivo, kg		
6ª semana	54,53	58,82
12ª semana	88,57	97,97
GPD ^a , kg/dia		
1-6 semanas	0,332	0,421
7-12 semanas	0,801	0,931

Fonte: Neto et. al, 2014

Gibson et al. (1997) relataram que a utilização de probiótico pode alterar a ingestão de alimento e o ganho de peso, melhorar a digestão da lactose e a motilidade do trato gastrintestinal, estimular as defesas imunológicas e, conseqüentemente, melhorar o desempenho e a saúde dos bezerros.

3.7.3 Probióticos para aves

Na avicultura industrial um dos principais desafios é o controle das salmoneloses, que resultam em prejuízos e infecções alimentares quando há o consumo de ovos ou carnes contaminadas.

A atividade dos probióticos fornece bases científicas associadas ao aumento da função protetora contra microrganismos patogênicos em galinhas jovens (LEE et al., 2010; VALENTIM et al., 2017).

Em 2006 a União Europeia proibiu o uso de antibióticos promotores de crescimento, pois é sabido os riscos que podem trazer, como a resistência bacteriana. No Brasil em 2018 o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), abordou em uma normativa a intenção de proibição do uso de antimicrobianos promotores de crescimento, sendo assim, é crescente o número de estudos que abordam o uso de probióticos (RAPOSO et. al, 2019).

Na revisão de Garcia e Gomes (2019) são citados trabalhos que fazem o uso de probióticos e/ou prebióticos na alimentação de aves. A utilização de bactérias

probióticas permite uma condição de equilíbrio da flora saudável, impedindo o desenvolvimento de *Escherichia coli*, *Clostridium sp*, *Salmonella sp*, entre outros, o que leva ao crescimento de bactérias benéficas, as quais produzem ácidos orgânicos como láctico, acético e butírico. A simbiose melhora a digestibilidade das proteínas, aminoácidos e melhora a absorção de energia da dieta, aumenta a atividade da fitase bacteriana, diminui a mortalidade embrionária, melhora a produção de ovos e a quantidade de ovos férteis em matrizes, diminui o surgimento de neoplasias, aumentando a imunidade das aves.

3.8 KEFIR NA ALIMENTAÇÃO DE ANIMAIS DOMÉSTICOS

Apesar de não haver bases científicas concretas, o kefir tem sido administrado para animais domésticos de uma forma artesanal por seus tutores, em especial, cães e gatos.

Torres (2019) apresenta o caso de um cão que começou a apresentar problemas intestinais, como diarreia e vômitos regulares, e após exaustivos meses com remédios sem que os veterinários conseguissem descobrir a causa, a dona do animal decidiu fornecer kefir de leite para ele, notando uma recuperação total do animal. O mesmo autor recomenda misturar o kefir na alimentação de cães, a fim de complementar sua dieta e até mesmo solucionar problemas gástricos, que são estabilizados após o fornecimento constante de kefir na dieta.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 LOCAL

Toda a pesquisa foi desenvolvida no laboratório de microbiologia da Orgolabs Laboratórios Ltda., empresa localizada na cidade de Descalvado – SP.

A Orgolabs é uma fábrica de minerais orgânicos (quelatos) que atua fornecendo seus produtos como matérias-primas para três linhas, sendo elas:

- Humana: indústrias farmacêuticas e farmácias de manipulação;
- Veterinária: formulação de rações, premix, sais minerais.
- Agrícola: adubos e fertilizantes

A empresa busca o constante desenvolvimento de produtos que atendam as novas tendências do mercado.

4.2 ASBL

A cultura “ASBL” utilizada é de domínio da empresa, sendo mantida congelada a -20°C. Para o experimento a mesma foi descongelada em temperatura ambiente e ativada em leite pasteurizado tipo A.

Após a cultura ser ativada, os grãos/sementes foram coados em uma peneira fina e submetidos a uma segunda fermentação em diferentes concentrações em béqueres contendo 100 ml de leite tipo A ou leite em pó.

4.3 LEITE

Foi utilizado no experimento o leite tipo A da marca Agrindus, produzido na Fazenda Santa Rita em Descalvado – SP.

O leite em pó usado foi da marca Itambé, seguindo as recomendações de preparo fornecido pelo fabricante: 120 gramas de leite em pó / 1 litro de água potável.

4.4. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental do ensaio foi estabelecido nas concentrações de 1%, 2%, 3%, 4% e 5% de grãos, com quatro repetições para cada, na temperatura de 30°C e nos dois tipos de leite. Sendo assim, obtém-se 20 amostras para cada tipo de leite, totalizando 40 amostras, conforme a Tabela 3.

Tabela 3 - Concentrações de ASBL e volume de leite

ASBL []	Repetições	Volume Leite em mL	
		A	Em Pó
1%	4	100	100
2%	4	100	100
3%	4	100	100
4%	4	100	100
5%	4	100	100

Os grãos foram pesados em balança semi-analítica, tiveram seu peso registrado e foram colocados no meio fermentativo. Logo após, a mistura (grão + leite) foi agitada e teve seu pH aferido, seguindo para uma câmara do tipo BOD por 24 horas na temperatura determinada, podendo variar $\pm 2^\circ\text{C}$.

4.6 AFERIÇÕES DOS PARÂMETROS

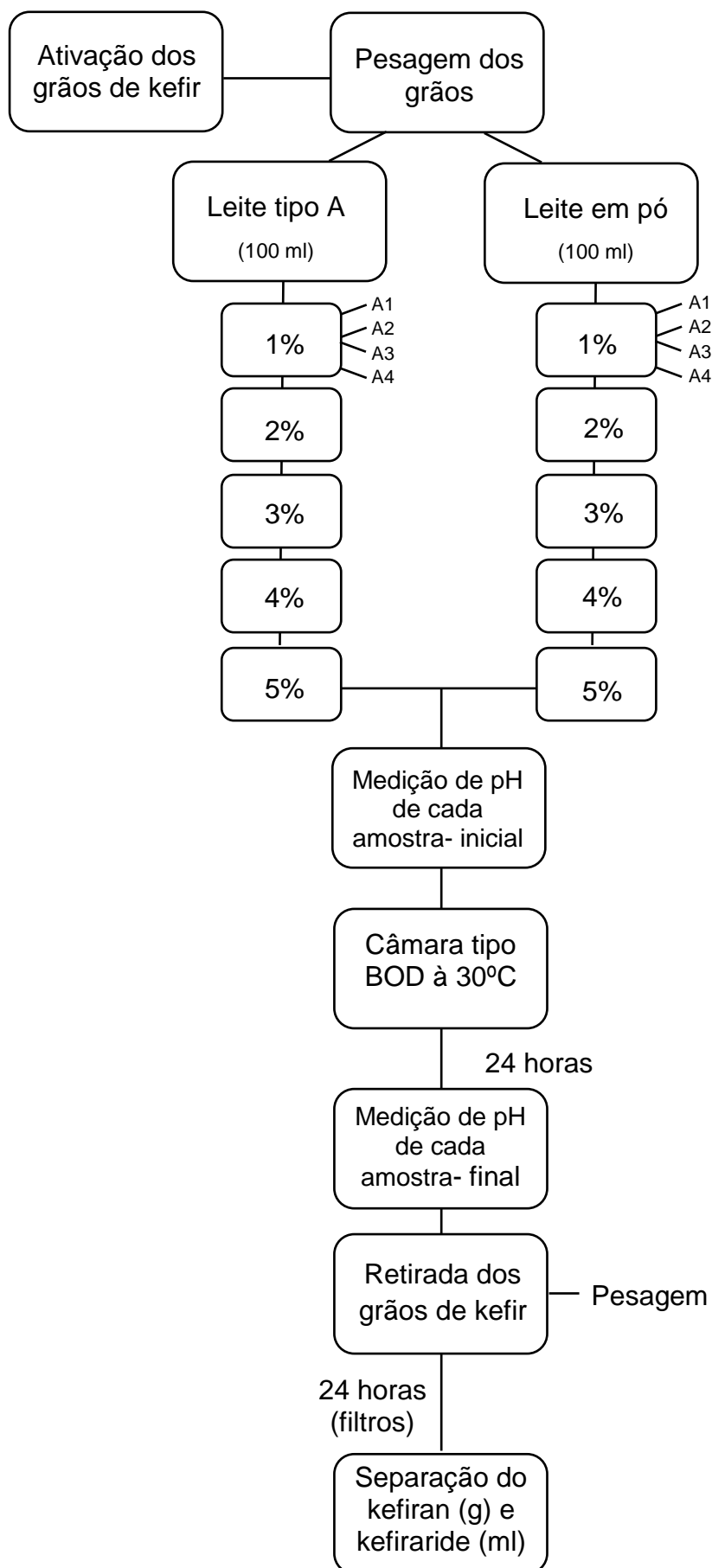
Passado às 24 horas, as amostras foram homogeneizadas e seu pH foi medido novamente.

Os grãos foram retirados do meio fermentativo e depois de secos em discos de papel e foram pesados novamente. O fermentando foi coado em filtros (do tipo reutilizável, para coar café) por mais 24 horas, separando a massa fermentada (chamada kefirana) do soro (kefiraride), e foi registrado seu peso e volume respectivamente.

Portanto, foi possível obter: os valores de pH, peso dos grãos ASBL (inicial e final), ganho de massa e volume de soro.

A figura 3 apresenta o esquema seguido no experimento.

Figura 5 - Esquema seguido no experimento



4.7. ANÁLISE DOS DADOS

Os dados experimentais atenderam as prerrogativas de normalidade, homogeneidade de variâncias e análise de resíduos sendo analisados em um delineamento inteiramente casualizado e as médias obtidas nas diferentes concentrações foram confrontadas pelo teste t Student ao nível de 95% de probabilidade. O processamento dos dados foi efetuado utilizando o software Statistica, versão 12 (StatSoft, Inc., 2014).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados serão discutidos a partir das próximas tabelas apresentadas.

Na tabela 4 é possível observar a redução nos valores de pH, o que indica a ocorrência da fermentação. A mistura se torna mais ácida na medida em que a concentração aumenta. Sendo mais nítida nas amostras do leite em pó, em que 4 e 5% são os menores índices, diferindo das demais e que não diferem entre si.

Tabela 4 - Resultados das comparações múltiplas dos potenciais hidrogeniônicos (pH) observados nas diferentes concentrações de Leite (tipo A e pó) nas fases inicial e final mantidos a 30°C. Universidade Brasil, Campus Descalvado, SP, Brasil, 2020.

Concentração	Leite	pH / Médias e Desvios Padrões*	
		Inicial	Final
1%	A	6,585 ± 0,031 Aa	5,083 ± 0,122 Ab
2%		6,615 ± 0,019 Aa	4,985 ± 0,103 ABb
3%		6,583 ± 0,015 Aa	4,620 ± 0,193 BCb
4%		6,563 ± 0,010 Aa	4,355 ± 0,236 CDb
5%		6,545 ± 0,010 Aa	4,173 ± 0,162 DEb
1%	PÓ	6,470 ± 0,014 Aa	4,878 ± 0,101 ABb
2%		6,428 ± 0,026 Aa	4,810 ± 0,159 ABb
3%		6,398 ± 0,022 Aa	4,390 ± 0,248 CDb
4%		6,380 ± 0,067 Aa	3,860 ± 0,454 Eb
5%		6,343 ± 0,054 Aa	3,948 ± 0,043 Eb

*: Valores seguidos pela mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste t ($p \geq 0,05$)

Uma pesquisa bem semelhante, apresentada por Rodas Huamán (2019), também tem amostras submetidas à temperatura de 30°C, porém nas concentrações de 5, 10 e 15%. A mesma redução de pH é observada, sendo maior nas concentrações mais altas.

Para os pesos das sementes em gramas (inicial e final), não se obteve um resultado final que apresentasse uma diferença significativa do inicial. Entretanto, nota-se que para as concentrações de 1 e 2% em leite tipo A, o ganho de massa é superior aos demais, com relevância considerando o desvio padrão positivo.

Tabela 5 – Resultados das comparações múltiplas dos pesos das sementes de kefir observados nas diferentes concentrações de Leite (tipo A e pó) nas fases inicial e final mantidos a 30° C. Universidade Brasil, Campus Descalvado, SP, Brasil, 2020.

Concentração	Leite	Semente / Médias e Desvios Padrões*	
		Inicial	Final
1%	A	1,022 ± 0,031 Ea	1,542 ± 0,430 FGa
2%		2,041 ± 0,031 Da	2,638 ± 0,421 DEa
3%		3,043 ± 0,031 Ca	3,323 ± 0,070 BCa
4%		4,039 ± 0,024 Ba	3,539 ± 0,309 Ba
5%		5,060 ± 0,030 Aa	4,713 ± 0,250 Aa
1%	PÓ	1,059 ± 0,036 Ea	1,117 ± 0,168 Ga
2%		2,067 ± 0,006 Da	2,103 ± 0,120 EFa
3%		3,051 ± 0,026 Ca	2,766 ± 0,312 CDa
4%		4,044 ± 0,012 Ba	3,730 ± 0,415 Ba
5%		5,036 ± 0,018 Aa	4,755 ± 0,476 Aa

*: Valores seguidos pela mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste t ($p \geq 0,05$)

Na tabela 6, os resultados mostram o peso do kefir em gramas e o volume de soro em ml.

Objetivando, o uso do kefir para a aplicação em nutrição de animais e/ou humanos, a concentração de 2% no leite tipo A tem um excelente resultado, sendo que dos 100 ml de leite que havia inicialmente, praticamente metade resultou em uma massa fermentada.

Contudo, para produção em uma escala industrial, a utilização de leite em pó se torna mais fácil e viável, pois é dispensável a refrigeração (como acontece no leite tipo A) e sua logística é mais simples. Portanto, para o leite em pó, apesar dos

números serem bem próximos, os melhores índices são aqueles que ficam entre as concentrações de 3 e 4%.

O soro por sua vez, apresenta uma relação “inversamente proporcional” ao kefiran, assim os valores são superiores nos testes com leite em pó.

Este produto, não menos importante, é rico em proteínas e tem baixo teor de gordura, podendo compor bebidas de alto valor nutricional. (DE JESUS, 2019)

Tabela 6 - Resultados das comparações múltiplas da parte sólida (kefiran) e líquida (kefiraride) do kefir observados nas diferentes concentrações de Leite (tipo A e pó) obtidos a 30° C. Universidade Brasil, Campus Descalvado, SP, Brasil, 2020.

Concentração	Leite	Kefir / Médias e Desvios Padrões	
		Kefiran	Kefiraride
1%	A	27,248 ± 7,908 CDE	68,500 ± 15,716 A
2%		46,335 ± 3,709 A	40,500 ± 3,317 F
3%		31,040 ± 1,177 C	51,000 ± 1,414 CDE
4%		32,982 ± 2,456 B	49,500 ± 1,000 DE
5%		31,434 ± 2,019 C	47,000 ± 2,449 EF
1%	PÓ	17,978 ± 0,687 F	70,500 ± 0,577 A
2%		21,966 ± 1,357 EF	60,250 ± 1,258 B
3%		25,328 ± 1,139 CDE	62,000 ± 4,082 AB
4%		27,470 ± 0,990 CD	56,250 ± 3,775 BCD
5%		23,166 ± 9,785 DEF	58,000 ± 1,414 BC

A figura 4 a seguir, mostra algumas das amostras do experimento, sendo que do lado esquerdo está à massa fermentada e do lado direito o soro.

Figura 6 – Kefiran e Kefiraride



Fonte: Autoria própria

6 CONCLUSÃO

Conclui-se neste trabalho, a partir dos parâmetros aferidos, que para a uma produção caseira de kefir, os níveis de concentração de grãos devem ser próximos de 2% em leite tipo A. Já para a indústria, o objetivo aqui já citado, deve-se trabalhar com a concentração entre 3% e 4%, sendo que mais próximo de 4% a fermentação do meio pode ser mais rápida na temperatura de 30°C, sendo então a indicada para a produção da empresa.

Como sugestões de pesquisas futuras seria a realização de testes com outras temperaturas para avaliar as alterações no desempenho da ASBL e buscar aplicações para o soro resultante da fermentação.

REFERÊNCIAS

ABE., F; ISHIBASHI; N.; SHIMAMURA, S. Effect of administration of bifidobacteria and lactic acid bacteria to newborn calves and piglets. J. Dairy Sci., v.78, p.2838-2846, 1995.

AHSAN, A.S.M.L.; AGAZZI, A.; INVERNIZZI, G.; BONTEMPO, V.; SAVOINI, G. The beneficial role of Probiotics in monogastric animal nutrition and health. J Dairy Vet Anim Res. 2015;2(4):116-132. DOI: 10.15406/jdvar.2015.02.00041

ALMEIDA, A.P.A.S. A utilização do kefir e seus benefícios para a saúde: revisão integrativa. Universidade Federal de Uberlândia da Faculdade de Medicina - FAMED. Uberlândia, 2018. Disponível em: <[http://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/22302/1/Utiliza%
c3%a7%c3%a3oKefirSa%
c3%bade.pdf](http://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/22302/1/Utiliza%c3%a7%c3%a3oKefirSa%c3%bade.pdf)>. Acesso em out. 2020.

ALTAY F, KARBANCIUGLU-GÜLER F, DASKAYA-DIKMEN C, HEPERKAN D. A review on traditional Turkish fermented non-alcoholic beverages: Microbiota, fermentation process and quality characteristics. Int. j. food microbiol;167(1):44-56, 2013.

ANVISA - Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos, 2012.

ARSLAN, Seher. A review: chemical, microbiological and nutritional characteristics of kefir. **CyTA-Journal of Food**, v. 13, n. 3, p. 340-345, 2015.

BENGOA, A.A.; IRAPORDA, C.; GARROTE, G.L.; ABRAHAM, A.G. Kefir micro-organisms: their role in grain assembly and health properties of fermented milk. Journal of Applied Microbiology. 15/09/2018. <https://doi.org/10.1111/jam.14107>.

BERMUDEZ-BRITO, M.; PLAZA-DIAZ, J.; MUNOZ-QUEZDA, S. GOMEZ-LLORENTE, C. Mecanismos de ação. Ann Nutr Metab; 61: 160-174, 2012.

BESHKOVA, D. M.; SIMOVA, E. D.; SIMOV, Z.I.; FRENGOVA, G.I.; SPASOV, Z.N. Pure cultures for making kefir. Food Microbiology, v. 19, n. 5, p. 537-544, 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 13 de 30 de novembro de 2004. Aprova o regulamento técnico sobre aditivos para produtos destinados à alimentação animal. Brasília, 01 dez. 2004. Disponível em: <file:///C:/Users/Notebook.com/Desktop/instrucao-normativa-no-13-de-30-de-novembro-de.pdf>. Acesso em: 11 maio 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n.46, 23 de outubro de 2007. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. *Diário Oficial*, Brasília, 24 outubro 2007, seção 1, p. 5.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional De Vigilância Sanitária. Alegações de propriedade funcional aprovadas. Brasília: ANVISA, 2009. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/alimentos/alegacoes>> Acesso em: 06 ago. 2019.

BRITO, JM; FERREIRA, AHC; JUNIOR, A ; ARARIPE, M .; LOPES, J.; DUARTE, A; RODRIGUES, V. Probióticos, prebióticos e simbióticos na alimentação de não-ruminantes-revisão. *Revista Eletrônica Nutritime* , v.11, n.1, p.3070-3084, 2014.

CABRAL, N. S. M. Kefir sabor chocolate: caracterização microbiológica e físico-química. 2014, 84 f. Monografia (Graduação) - Faculdade de Nutrição Emília de Jesus Ferreiro, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, 2014.

CARAZZATO, C. Kefir de leite. 2019. Disponível em: <<http://fermentadora.com.br/2019/05/kefir-de-leite/>>. Acesso em: out. 2020.

CARISI, P.; RACEDO, S.M.; JACQUOT, C.; ROMANIN, D.E. Impact of Kefir Derived Lactobacillus kefir on the Mucosal Immune Response and Gut Microbiota. *Journal of Immunology Research*. Volume 2015. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/jir/2015/361604/>>. Acesso em: out. 2020.

CARNEIRO, R.P. Desenvolvimento de uma cultura iniciadora para produção de kefir. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, MG. 2010.

CARVALHO, N.C. Efeito do método de produção de kefir na vida de prateleira e na infecção experimental com *Salmonella Typhimurium* em camundongos. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais. 2011.

COSTA, M.P.; BALTHAZAR, C.F.; MOREIRA, R.V.B.P.; CRUZ, A.G.; CONTE JÚNIOR, C.A. Leite fermentado: potencial alimento funcional. Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer, v.9, nº 16, 2013.

CZAMANSKI, R.T.; GRECO, D.P.; WIEST, J.M. Evaluation of antibiotic activity infiltrates of traditional kefir. *Higiene Alimentar*, v.18, p. 75-77, 2004.

D'ANGELIS, D.F.; UBALDO, J.C.S.R. Kefir: funcionalidade, versatilidade e potencial de mercado. Milk Point Industria de Laticínios. 01/07/2020. Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/artigos/industria-de-laticinios/kefir-funcionalidade-versatilidade-e-potencial-de-mercado-220285/>>. Acesso em: out. 2020.

DE JESUS, Aline Salterello et al. ELABORAÇÃO DE BEBIDA A PARTIR DO SORO DE LEITE FERMENTADO POR KEFIR. In: v. 2 n. 2: **XI Simpósio e IV Semana Acadêmica de Nutrição da UFGD**. 2019.

DINIZ, R. O. et al. Atividade antiinflamatória de quefir, um probiótico da medicina popular. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, p. 19-21, 2003.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY-EFSA. Scientific opinion on lactose thresholds in lactose intolerance and galactosaemia. *EFSA Journal*, Parma, v.8, n.9, p.1-29, 2010. Available in: <<http://www.efsa.europa.eu/de/scdocs/doc/1777.pdf>>. Access in: out. 2020.

FARNWORTH, E.R. kefir- a complex probiotic. *Food Science and Technology Bulletin*, v. 2, p. 1-17, 2005.

FREIRE, C.E.T. Biotecnologia no Brasil: uma atividade econômica baseada em empresa, academia e Estado. Programa de Pós-graduação em Sociologia do Departamento de Sociologia da Faculdade de Filosofia, Letras e Ciências Humanas da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2014.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, v.66, n. 5, p.365-378, 1989.

GARCIA, D. A.; GOMES, D. E. A AVICULTURA BRASILEIRA E OS AVANÇOS NUTRICIONAIS. **Revista Científica**, v. 1, n. 1, 2019.

GARCIA, S.; SOUZA, G.; VALLE, J.L. E. Quefir e sua tecnologia - aspectos gerais *Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos*, v. 21, n. 2, p. 137-155, 1984.

GARCIA, G. R. Caracterização microbiológica e avaliação de uma cepa de *Bacillus subtilis* no desempenho de bezerros da raça holandesa. 2008. 68f. Tese (Doutorado em Microbiologia Agropecuária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária – Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita, Jaboticabal.

GARROTE, Chemical and microbiological characterisation of kefir grains. *Journal of Dairy Research*, v.68, n.4, p. 639-652, 2001.

GIBSON, G.R.; SAAVEDRA, J.M.; MacFARLANE, S. et al. Probiotic and intestinal infections. In: FULLER, R. (Ed). *Probiotics 2: applications and practical aspects*. London: Chapman & Hall, 1997. cap.2, p.10-39.

GLEESON, M; NC BISHOP, N.C.; M. OLIVEIRA, M.; P. TAULER, P. Redução diária da incidência de infecção por probióticos (*Lactobacillus casei* Shirota) em atletas Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab., 21, 2011.

GULITZ, A.; STADIE, J.; WENNING, M.; EHRMANN, M. A.; VOGEL, R. F. The microbial diversity of water kefir. *International Journal of Food Microbiology*, v. 151, n. 3, p. 284-288, 2011.

HUAYNATE, Rizal Alcides Robles et al. Uso de probiótico em dietas de suínos: incidência de diarreia, desempenho zootécnico e digestibilidade de rações. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 43, n. 5, p. 664-673, 2006.

JUNQUEIRA, O. M., BARBOSA, L. C. G. S., PEREIRA, A. A., ARAÚJO, L. F., GARCIA NETO, M., & PINTO, M. F. (2009). Uso de aditivos em rações para suínos nas fases de creche, crescimento e terminação. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 38(12), 2394-2400.

LAMPRECHT, M.; BOGNER, S.; SCHIPPINGER, G.; STEINBAUER, K.; F. et al. A suplementação de probióticos afeta os marcadores da barreira intestinal, oxidação e inflamação em homens treinados; um ensaio randomizado, duplo-cego e controlado por placebo J. Int. Soc. Sports Nutr., 9, 2012.

LEE, KW; LI, G.; LILLEHOJ, HS; LEE, SH; JANG, SI; BABU, EUA; SIRAGUSA, GR *Bacillus subtilis* com alimentação direta de microbianos aumentam a função de

macrófagos em frangos de corte. *Research in Veterinary Science* , v.91, n.3, p.87-91, 2011.

LEITE, A.M.O.; MIGUEL, M.A.L.; PEIXOTO, R.S.; ROSADO, A.S.; SILVA, J.T. Propriedades microbiológicas, tecnológicas e terapêuticas do kefir: uma bebida probiótica natural. *Braz. J. Microbiol.* vol.44 no.2 São Paulo 2013

LILLY, D.M; STILLWELL, R.H. Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms. *Science*, v. 147, n. 3659, p. 747-748, 1965.

LIMA, T.C.C. Benefícios dos probióticos para a saúde humana. *Nutrição do Centro Universitário IBMR/Laureate International Universities*. Rio de Janeiro, 2017. Disponível em: <<https://www.ibmr.br/files/tcc/beneficios-dos-probioticos-para-a-saude-humana-tais-cristina-cunha-de-lima.pdf>>. Acesso em: out. 2020

MANARINI, T. Os benefícios do kefir, sob o olhar da ciência. 2018. Disponível em: <<https://saude.abril.com.br/alimentacao/os-beneficios-do-kefir-sob-o-olhar-da-ciencia/>>. Acesso em: out. 2019.

MARTINS, A.R.; MONTEIRO, R.L.; BURKERT, J.F.M.; BURKERT, C.A.V. Hidrólise enzimática simultânea e fermentação láctica para obter um iogurte com baixo teor de lactose. *Ciênc. agrotec.* vol.36 no.5 Lavras Set./Out. 2012.

MAZUREK, B.; FREDERIGO, R.C. Disbiose e simbióticos. 2012. Disponível em: <<https://www.dechra.com.br/common/uploads/artigos/disbiose-e-simbioticos9476.pdf>>. Acesso em: out. 2020.

MENEGON, G. Probióticos na nutrição de bovinos. *COAGRIL - Cooperativa Agrícola Rio Grande do Sul*. 2020. Disponível em: <<http://www.coagrils.com.br/informativos/ver/100/probioticos-na-nutricao-de-bovinos>>. Acesso em: out. 2020.

MONFERDINI, R. e DUARTE, K.M.R. Uso de probióticos na produção animal. *PUBVET*, Londrina, V. 4, N. 35, Ed. 140, Art. 944, 2010.

MORE, J.C.R.S. Produção e caracterização do kefir saborizado com polpa de cagaita (*eugenia dysntherica*). Mestre em Ciência Animal junto à Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2019.

NETO, André Thaler et al. DESEMPENHO DE BEZERROS DA RAÇA HOLANDESA SUPLEMENTADOS COM PROBIÓTICO A BASE DE SACCHAROMYCES

CEREVISAE, CEPA KA500 E PEDIOCOCCUS ACIDILACTICI. **Archives of Veterinary Science**, v. 19, n. 4, 2014.

O'BRIEN, K.V.; STEWART, L.K.; FORNEY, L.A.; ARYANA, K.J. et al. The effects of postexercise consumption of a kefir beverage on performance and recovery during intensive endurance training. *Journal of Dairy Science*, v. 98, n 11, November 2015, Pages 7446-7449 November 2015.

PALLARÉS, M.I. *Innovación en Producto Alimentario y Plan de Emprendimiento*. Universidad de Sevilla. Escuela Politécnica Superior de Sevilla. 2016. Disponível em: <https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/64387/TFM_MIP_innovacion.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em out. 2020.

PARKER, R. Probiotics, the other half of the antibiotic story. *Animal Nutrition and Health*, 29(4): 8, 1974.

PAULA, J.C.J.; AYUPP, J.D.S.; SOBRAL, D.; COSTA, R.G.B.; TEODORO, V.A.M. Kefir: a bebida do futuro, uma alternativa saudável. *Tecnologia, Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação em Produtos Lácteos*. Ano XXIV - nº 138, p. 81-89, Mai/Jun 2019.

PERBELIN, A.S.; SILVA, C.V.; MELLO, E.V.S.L.; SCHNEIDER, L.C.L. O papel da microbiota como aliada no sistema imunológico. *UEM - Universidade Estadual De Maringá. Arquivos do MUDI*, v 23, n 3, p. 345-358, 2019

PIETTA, G.M.; PALEZI, S.C. Desenvolvimento de um iogurte sabor mirtilo à base de kefir e com reduzido teor de lactose. *Unoesc & Ciência - ACET Joaçaba*, v. 6, n. 2, p. 163-174, jul./dez. 2015.

PRADO, M.R.; BLANDON, L.M.; VANDENBERGHE, L.P.S.; RODRIGUES, C. CASTRO, G.R. et al. Milk kefir: composition, microbial cultures, biological activities, and related products. *Front Microbiol*; 6: 1177, 2015. doi: 10.3389/fmicb.2015.01177.

RAPOSO, R. S; DEFENSOR, R. H.; GRAHL, T. R. Uso de probióticos na avicultura para o controle da *Salmonella* spp.: revisão de literatura e perspectivas de utilização. **PUBVET**, v. 13, p. 152, 2019.

RASTEIRO, V.S., BREMER NETO, H., ARENAS, S.E., REIS, L.S.S., GALLINA, N.M.G., OBAS, E., PARDO, P.E. 2007. Adição de probiótico na mistura mineral

eleva o ganho de peso de bovinos no período da seca. Arch. Latinoam. Prod. Anim. 15: 79-83

RIBEIRO, A. S. Caracterização de micro-organismos com potencial probiótico isolados a partir de refir produzidos na região noroeste do estado do Rio Grande do Sul. Mestrado do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Maria. 2015.

RODAS HUAMÁN, Deisy Stephany. Efecto del porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación en la elaboración de una bebida funcional. 2019.

RODRIGUES, K. L.; CARVALHO, J. C. T.; SCHNEEDORF, J. M. Anti-inflammatory properties of kefir and its polysaccharide extract. *Inflammo pharmacology*, Vol. 13, No. 5–6, pp. 485–492. 2005.

ROSA, D.D.; DIAS, M.M.S.; REIS, S.A. Milk kefir: nutritional, microbiological and health benefits. Cambridge University Press, v. 30, ed. 1, 2017.

ROSELINO, M.N. Avaliação do simbiótico fermentado com enterococcus faecium CRL 183 e Lactobacillus helveticus ssp jugurti 416, à base de extratos aquosos de soja e de yacon no controle do desenvolvimento do diabetes mellitus. Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Araraquara, 2012.

SAAD. S.M.I. Probióticos e probióticos: o estado da arte. Rev. Bras. Cienc. Farm. vol.42 no.1 São Paulo Jan./Mar. 2006

SANTOS, F. L. et al. Kefir: uma nova fonte alimentar funcional? *Diálogos & Ciência (Online)*, v.10, p.1-14, 2012.

SARKAR, S. Biotechnological innovations in kefir production: a review. *British Food Journal*, v. 110, n. 3, p. 283-295, 2008

SILVA, N.B.V. Crescimento de grão de kefir em diferentes concentrações em leite integral e em pó. Universidade Brasil Curso de Medicina Veterinária. Descalvado 2019.

TEBERGA, Patricia Marins Freire. Avaliação do efeito de diferentes prebióticos sobre o desenvolvimento de cepas de Lactobacillus. 2017. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada) - Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São

Paulo, Lorena, 2017. doi:10.11606/D.97.2018.tde-08062018-183427. Acesso em: 15 jun. 2021

TORRES, I.M.M. Introdução de Kefir na Dieta de Primatas em Cativeiro. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Zootecnia, Recife, BR-PE, 2019.

VALENTIM, J.K.; PAULA, K.L.C.; MIRANDA, D.A.; ANTUNES, H.C.F.; LEMKE, S.S.R. Uso de probióticos na dieta de frangos de corte do tipo country e seus efeitos sobre o rendimento de carcaça, morfologia e pH gastrointestinal. *Rev. bras. saúde prod. anim.* vol.18 no.4 Salvador out./ dez. 2017.

VINDEROLA, G.; PERDIGON, G.; DUARTE, J.; FARNWORTH, E.; MATAR, C. Effects of the oral administration of the products derived from milk fermentation by kefir microflora on immune stimulation. *Journal of Dairy Research*, v. 73, p. 472-479, 2005.

WESCHENFELDER, S.; WLEST, J.M. CARVALHO, H.H.C. Atividade anti-escherichia coli em kefir e soro de kefir tradicionais. *Rev. Inst. Latic. "Cândido Tostes"*, Mar/Jun, nº 367/368, 64: 48-55, 2009.

WESCHENFELDER, S.; PEREIRA, G. M.; CARVALHO, H. H. C.; WIEST, J. M. Caracterização físico-química e sensorial de kefir tradicional e derivados. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 63, n. 2, p. 473-480, 2011.

WGO - WORLD GASTROENTEROLOGY ORGANISATION. Diretrizes Mundiais da Organização Mundial de Gastroenterologia. Probióticos e prebióticos, 2011. Disponível em: <<http://www.worldgastroenterology.org/probiotics-prebiotics.html>>. Acesso em: out. 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Probiotics in food: Health and nutritional properties and guidelines for evaluation. In: *FAO Food and Nutrition paper 85*, 2006. Disponível em: <<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/a0512e/a0512e00.pdf>>. Acesso em: out 2020.